

EFFECTOS DE LA NUTRICIÓN Y EL MANEJO SOBRE EL DESARROLLO DE PATOLOGÍAS DIGESTIVAS DE GAZAPOS EN UN ENTORNO DE ENTEROPATÍA EPIZOÓTICA

J.C. de Blas¹, J.R. Astillero¹, S. Chamorro¹, A. Corujo², J. García-Alonso¹, P. García-Rebollar¹, A.I. García-Ruiz², D. Menoyo, N. Nicodemus¹, C. Romero¹ y R. Carabaño¹

¹Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid.

²Nutreco Poultry and Rabbit Research Centre, Casarrubios del Monte.

1.- INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas digestivas suponen una alta proporción del total de problemas sanitarios en conejos, debido en parte a la elevada incidencia de la enteropatía epizoótica del conejo (EEC), una enfermedad que afecta a la práctica totalidad de las granjas de conejos de Europa. La alta tasa de mortalidad asociada a esta enfermedad ha conducido a un uso extendido de piensos medicados en las semanas posteriores al destete, lo que reduce sensiblemente el margen económico de las explotaciones.

La causa original de las enfermedades entéricas es la presencia del patógeno. Sin embargo, incluso cuando está presente, factores tales como la concentración de flora saprofita intestinal y/o los mecanismos de defensa del animal pueden impedir o reducir el crecimiento de la flora patógena y el desarrollo de la enfermedad. Esto explica por qué algunos animales sobreviven a infecciones controladas causadas por estirpes patógenas, incluso aunque muestren algunos síntomas (morbilidad). Los mecanismos por los que las bacterias no-patógenas predominan sobre las patógenas (exclusión competitiva) son complejos. De acuerdo con Hampson et al. (2001), incluyen diferencias en crecimiento sobre la base de la competencia por un mismo sustrato, diferencias en la eficacia de colonización de la mucosa intestinal, o la producción de sustancias (ácidos grasos de cadena corta, sales biliares deconjugadas o bacteriocinas) que inhiben el desarrollo del patógeno.

Para controlar estos problemas se han diseñado diversas alternativas, como el suministro de piensos especiales de arranque. Las estrategias nutricionales tratan fundamentalmente de potenciar las defensas del animal favoreciendo los mecanismos de exclusión competitiva entre bacterias para controlar el crecimiento de potenciales patógenos y la producción de toxinas. Para ello se ha propuesto actuar sobre: i) el tipo de sustrato que llega al área fermentativa y que pudiera promover o por el contrario ayudar a controlar el desarrollo de la enteropatía, y ii) la limitación del tiempo de acceso de la microbiota a los sustratos con el fin de dificultar la proliferación de patógenos, es decir, evitar la acumulación excesiva de digesta en el ciego. Otras líneas de actuación se dirigen hacia conocer los factores de la ración que afectan a los mecanismos de defensa de la barrera intestinal del animal, con el fin de dificultar su colonización por las bacterias patógenas y/o la absorción de toxinas.

De acuerdo con los datos de diferentes experimentos, la mortalidad por EEC de grupos de gazapos consumiendo el mismo pienso puede oscilar entre un 0 y un 60%. Esto sugiere que además del tipo de alimento ingerido, otros factores como la higiene de la granja, condiciones ambientales, manejo de la alimentación (edad al destete, restricción alimenticia) o el tipo de tratamiento médico pueden resultar igualmente determinantes en el desencadenamiento o en el control de los procesos infecciosos del aparato digestivo. En este contexto, el objetivo de este trabajo es revisar el papel de la nutrición y del manejo sobre el desarrollo, actividad y toxicidad de patógenos asociados a problemas de salud intestinal de gazapos.

2.- AGENTES INFECCIOSOS ASOCIADOS A LA ENTEROPATÍA EPIZOÓTICA DEL CONEJO

La enteropatía epizootica del conejo apareció en 1997 y es un problema sanitario generalizado y grave en granjas comerciales. Los síntomas de la enfermedad incluyen caída de consumo, borborigmo, presencia de mucus y dilatación de intestino delgado y colon, distensión abdominal con producción de gases (en etapas preliminares), y ciegos o bien compactados o bien con contenido líquido (Pérez de Rozas et al., 2005; Licois et al., 2006). Los síntomas se presentan generalmente entre 10 y 15 días después del destete, cualquiera que sea la edad a la que se practique (Licois et al., 2000; Garrido et al., 2006; Maertens y Strucklec, 2006), pudiendo llegar a causar hasta un 60% de mortalidad, además de morbilidad y retrasos en la duración del cebo.

En el momento actual aún se desconoce el agente etiológico desencadenante de la EEC, dado que no ha sido posible reproducir la enfermedad a partir de ninguna cepa de patógenos aislados o en combinación con otros (Marlier et al., 2003). Sin embargo, sí se ha podido reproducir utilizando inóculo procedente de contenido digestivo de animales enfermos o a partir de muestras de polvo de granjas contaminadas con el patógeno (Licois

et al., 2003). Se ha establecido que su origen es bacteriano y que la bacteria *Clostridium perfringens* es la principal candidata para explicar el desarrollo de la EEC, dada su proliferación en el contenido digestivo de animales que presentan síntomas de la enfermedad, donde en cambio no se detecta presencia de otros posibles agentes como *Clostridium spiroforme* o cepas patógenas de *E. coli* (Pérez de Rozas et al., 2005; Marlier et al., 2006; Szalo et al., 2007). En muestreos realizados en nuestro Departamento en diferentes ensayos (no publicados) a lo largo del año 2007 sobre un total de 329 animales, se ha detectado presencia de *Clostridium perfringens* en el contenido digestivo de todos ellos. Por otra parte, de los 30 que contenían más de 2×10^6 UFC/g de *Clostridium perfringens*, 23 presentaban síntomas de EEC. De los siete restantes, cinco correspondían a gazapos lactantes no-destetados. Ningún animal con menos de este nivel umbral (2×10^6 UFC/g) presentaba síntomas de EEC. Asimismo, la frecuencia de detección de *Clostridium perfringens* en contenidos digestivos (y también, pero en menor grado, de *Campylobacter* spp) medida por técnicas de RFLP varió en relación directa con la mortalidad por EEC (Chamorro et al., 2007a,c y Gómez-Conde et al., 2007). Por otra parte, la asociación de EEC con la presencia de coccidios da lugar a tasas de mortalidad particularmente elevadas tanto en conejos (Coudert et al., 2003; Chamorro et al., 2007b) como en aves (Van Immerseel et al., 2004; Williams, 2005). La coccidiosis produce daños en la mucosa y fuga de proteínas plasmáticas que facilitarían la proliferación de *Clostridium perfringens*, la liberación de toxinas y su absorción a través del epitelio intestinal.

Clostridium perfringens es una bacteria gram positiva, anaerobia estricta e inmóvil, capaz de producir esporas, ampliamente distribuida en suelo, polvo, vegetación, ingredientes y alimentos crudos o procesados inadecuadamente y contenido digestivo de animales sanos. Muestras de polvo tomadas en ventiladores de granjas de conejos muestran conteos positivos con concentraciones que oscilan entre 10^2 y 10^6 UFC/g, tanto de esporas como de células vegetativas, dependiendo del manejo y del nivel de higiene (Romero et al., 2007). Las células vegetativas son sensibles a actividades de agua inferiores a 0,94-0,95, a pH por debajo de 5,5-5,8 y a temperaturas superiores a 50° C, aunque su temperatura de crecimiento óptima está situada entre 43 y 47° C (EFSA, 2005). Sin embargo, las esporas pueden resistir temperaturas de hasta 100° C durante 2 horas (Greenham et al., 1987; Williams, 2005).

Algunas de las cepas de *Clostridium perfringens* producen y liberan exotoxinas patógenas (siendo las más importantes las denominadas como alfa, beta, epsilon y iota). Las cepas toxigénicas de *Clostridium perfringens* se clasifican (de la A a la E) según el tipo de exotoxinas producido. Las de tipo A producen exotoxina alfa, que causa hidrólisis de fosfolípidos y desorganización de las membranas celulares (eritrocitos, plaquetas, leucocitos, células endoteliales y musculares). Las de tipo C producen exotoxina alfa-beta2, relacionada con necrosis de la mucosa y con los síntomas asociados a fallos del sistema nervioso central (Hatheway, 1990; Songer, 1996). Ambas toxinas han sido

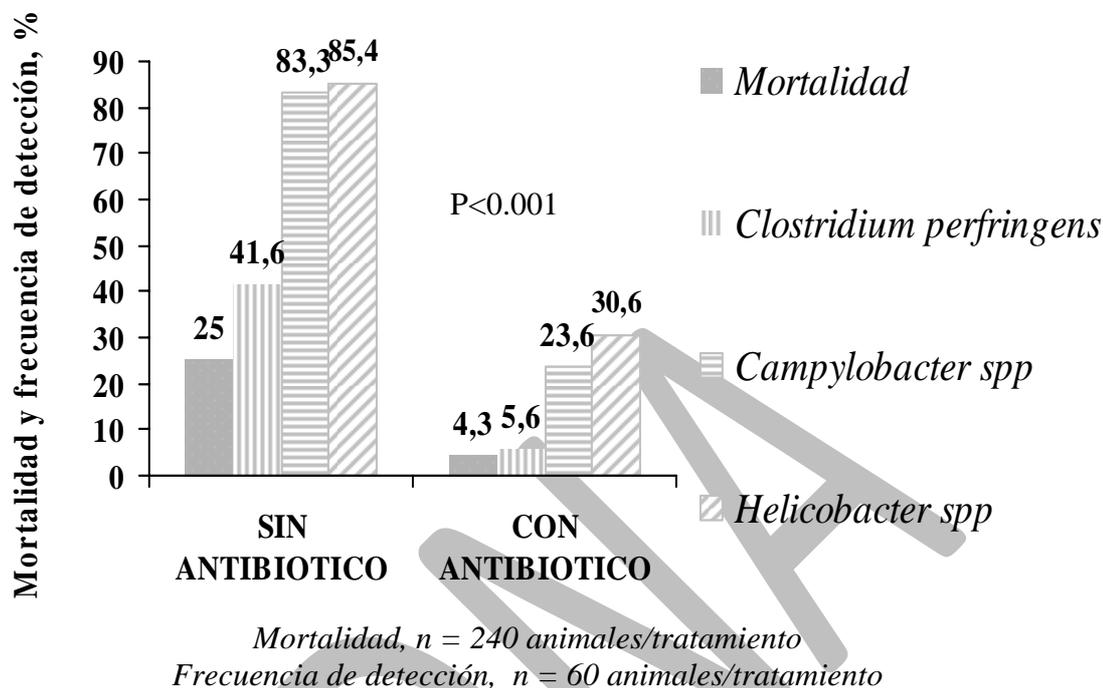
detectadas en el contenido digestivo de animales afectados por EEC (Le Normand et al., 2003; Dewrée et al., 2003), estando asociadas mayoritariamente a la aparición de síntomas de ciego líquido (tipo A) o compactado (tipo C). Las toxinas de *Clostridium perfringens* son lábiles cuando se procesan a 60° C durante 5 minutos, pero son activas en el medio digestivo donde son liberadas (EFSA, 2005). Además, en el momento de la esporulación y lisis de las células vegetativas se produce una enterotoxina (CPE) (Petit et al., 1999). La esporulación ocurre cuando se alcanzan concentraciones elevadas de células vegetativas en el contenido digestivo ($>10^6$ - 10^8 UFC/g, Hatheway, 1990; EFSA, 2005). Las enterotoxinas parecen ser responsables de las principales lesiones y síntomas asociados (enteritis necrótica y enterotoxemia en la especie humana y en varias especies animales como aves, porcino, equinos, rumiantes y perros; Songer, 1996; Petit et al., 1999; Van Immerseel et al., 2004).

3.- USO DE PIENSOS MEDICADOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA EEC

Diferentes trabajos han mostrado la eficacia de varios antibióticos para el control de la EEC. Este es el caso de la adición de bacitracina de zinc al pienso (Duperray et al., 2003) o en forma soluble al agua de bebida (Boisot et al., 2003a), tiamulina (Licois et al., 2006), tilosina (Bostvironnois y Morel, 2003) o la combinación de tilosina con apramicina (Badiola et al., 2000). Los efectos positivos del uso de algunas de estas moléculas se han explicado por dificultar la esporulación de *Clostridium perfringens* (bacitracina de zinc, Elfadil et al., 1996) o por una reducción de la frecuencia de detección de *Clostridium perfringens* y otros patógenos (bacitracina de zinc; Agnoletti et al., 2007 y combinación de tilosina y apramicina en el agua de bebida; Chamorro et al., 2007c, ver figura 1). Otros productos que se han demostrado eficaces frente a EEC son enrofloxacin, neomicina y tetraciclinas (Badiola et al., 2007).

Los antimicrobianos oficialmente registrados en la UE en la actualidad para el control de esta enfermedad incluyen bacitracina de zinc, sulfato de apramicina y tiamulina en premezclas (www.agemed.es/actividad/documentos/sgVeterinaria/docs/premezclas-list-2007.pdf). Los periodos de retirada para estas moléculas son, respectivamente, 0, 24 y 0 h. El resto requiere un periodo de retirada de 28 días, lo que imposibilita su uso en piensos de cebo de conejos. El uso del sulfato de apramicina está también autorizado en España en el agua de bebida. Esta forma de suplementación tiene la ventaja adicional de permitir una dosificación más flexible del producto y una mayor seguridad de su consumo por parte de animales que muestran los primeros síntomas de la enfermedad.

Figura 1.- Efecto del uso de una combinación de 100 ppm de sulfato de apramicina y de 120 ppm de tilosina en el agua de bebida sobre la mortalidad en cebo y la frecuencia de detección de bacterias patógenas en contenido ileal de gazapos (según Chamorro et al., 2007c).



4.- DISEÑO DE PIENSOS ESPECIALES DE ARRANQUE PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS Y DE LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS

El momento del destete es un periodo crítico para el desarrollo de patologías digestivas. La sustitución de leche por pienso sólido en la dieta de animales jóvenes supone una situación de estrés, una reducción del consumo de agentes antimicrobianos presentes en la leche de forma natural y una disminución de la digestibilidad ileal de la ración (con el consiguiente aumento de flujo de sustrato hacia la zona fermentativa); todo ello en un contexto de un sistema inmunitario inmaduro, insuficientemente desarrollado (De Blas et al., 1999a; Campín et al., 2003). En estas condiciones, la estrategia nutricional para el desarrollo de piensos de arranque se basa fundamentalmente en minimizar los daños en la mucosa y en su funcionalidad, favorecer el desarrollo de flora saprofita y limitar el crecimiento de la flora patógena.

4.1.- Inclusión de un mínimo de fibra insoluble y de niveles moderados de fibra soluble.

La inclusión de un mínimo de fibra insoluble en el pienso (30-32% FND) tiene por objeto garantizar una velocidad de tránsito adecuada que evite la acumulación de la digesta

en el ciego (De Blas et al., 1999b). Esto se traduce directamente en un menor tiempo de fermentación y una mayor tasa de renovación de la flora digestiva. Adicionalmente, la fibra diluye la concentración en almidón y proteína tanto en el pienso como en el contenido ileal, por lo que en conjunto un incremento del nivel de fibra insoluble supone una reducción de la densidad de microorganismos en el contenido digestivo (García-Alonso et al., 1995 y 2000) y una disminución de la mortalidad con respecto a dietas con un contenido insuficiente en fibra insoluble (< 25-27% FND, Gidenne et al., 2004 a,b; Nicodemus et al., 2004; Gidenne y Licois, 2005). En el otro extremo, un nivel excesivo de FND (>36-38%) en el pienso de arranque se traduce en un incremento de la mortalidad y en una peor eficacia alimenticia (Gutiérrez et al., 2002; Feugier et al., 2006), en paralelo con un empeoramiento de la estructura de la mucosa (Alvarez et al., 2007), aunque los efectos parecen depender del tipo de granja considerada (Margüenda et al., 2006).

La inclusión de niveles moderados de fibra soluble ha reducido la incidencia de enteropatía y la frecuencia de detección en el intestino de *Clostridium perfringens* y otros patógenos, mejorando la respuesta inmune en animales y reduciendo la mortalidad en las semanas posteriores al destete (Gómez-Conde et al., 2007; ver cuadro 1).

Cuadro 1.- Efecto del tipo de fibra en piensos isofibrosos (30%FND) sobre la integridad y actividad de la barrera intestinal, la frecuencia de detección de flora patógena y la mortalidad en cebo (según Gómez-Conde et al., 2007)

	Pulpas de manzana y remolacha	Heno de alfalfa	Cascarilla de avena	P
<i>Barrera intestinal (yeyuno)</i>				
Longitud de los villi, µm	721 ^a	567 ^b	492 ^c	0,05
Profundidad de las criptas, µm	89 ^b	115 ^a	113 ^a	0,05
Actividad sacarásica (U/mg)	8500 ^a	7100 ^b	5400 ^c	0,05
Flujo ileal almidón, g/d	0,5 ^c	0,8 ^b	1,2 ^a	0,001
<i>Lamina propria</i>				
Linfocitos CD4+ (%)	35	33	26	NS
Linfocitos CD8+ (%)	21 ^b	27 ^b	31 ^a	0,05
pH contenido cecal	5,23	5,44	5,50	0,06
Frecuencia de detección de patógenos en el contenido cecal				
<i>C. perfringens</i>	5,7 ^b	2,87 ^b	17,6 ^a	0,05
<i>Campylobacter</i> spp	19,4	21,2	37,8	0,07
Mortalidad en cebo (%)	5,3 ^b	8,5 ^{ab}	14,4 ^a	0,05

De acuerdo con Marounek et al. (1995) y Lavrencik (2007) la flora cecal de conejos de 28 días de edad se encuentra en concentraciones limitadas con respecto a la de animales adultos y está especializada en la fermentación de carbohidratos fibrosos solubles (tales como fructanos, galactanos, beta-glucanos y pectinas). En consecuencia, la adición de fibra digestible a la dieta podría hipotéticamente resultar útil para promover la exclusión competitiva al utilizarse como sustrato para el crecimiento de la flora saprofita. Además, la fibra soluble favorece el crecimiento de los villi y la actividad de los enterocitos, mientras que la inclusión de fibras lignificadas tiene el efecto contrario (Chiou et al., 1994; García-Ruiz et al., 1997; Alvarez et al., 2007; Gómez-Conde et al., 2007, ver cuadro 1). A partir de éstos y otros resultados obtenidos en granjas comerciales (Fabre et al., 2006; Margüenda et al., 2006), puede concluirse que, junto a un nivel óptimo de FND de un 30-32%, parece recomendable la inclusión en el pienso de un 10-12% de fibra soluble, si bien este nivel óptimo podría depender del estado sanitario de la granja, es decir del perfil microbiano existente en cada explotación.

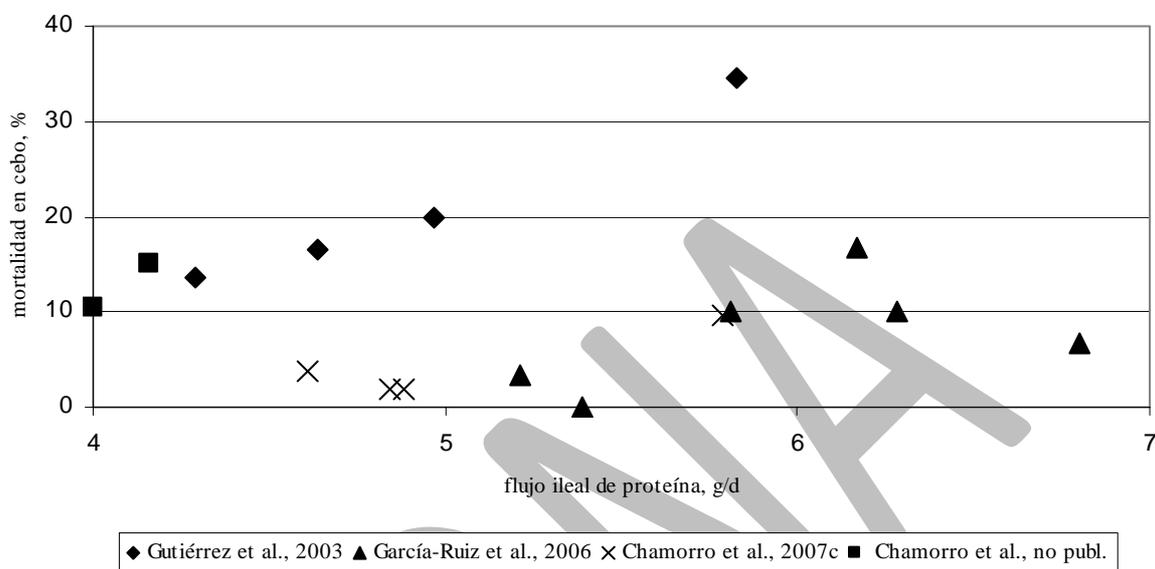
4.2.- Reducción del flujo ileal de proteína

Las necesidades de proteína y aminoácidos son relativamente altas en gazapos jóvenes, no sólo para el desarrollo de tejidos, sino también para la renovación y crecimiento de la mucosa intestinal (Lebas y Laplace, 1972). Además, la activación de mecanismos de defensa de la barrera intestinal puede implicar necesidades específicas de aminoácidos. Así, la treonina es un componente importante de las proteínas de las mucinas, mientras que el glutámico es el principal aminoácido utilizado por los enterocitos como fuente de energía, jugando un papel esencial en los mecanismos de reparación del tejido de la mucosa (Le Floc'h y Seve, 2000; Reeds et al., 2000). Trabajos recientes (Chamorro et al., 2007 a,b) indican que la suplementación del pienso con un 1% de glutamina redujo la mortalidad causada por EEC, modificó la microbiota ileal (con una disminución de la frecuencia de detección de varios patógenos como *Clostridium perfringens* y *Helicobacter* spp), y disminuyó la presencia de *Eimeria* spp en el yeyuno.

Otro factor importante que se ha observado que puede incidir sobre la mortalidad es el flujo diario de proteína hacia el ciego (Gutiérrez et al., 2003; García-Ruiz et al., 2006; Chamorro et al., 2007c, ver figura 2). Otros estudios indican que un incremento del flujo de proteína en íleon terminal aumentó la población de *Clostridium* spp. (Catala y Bonnafous, 1979; Haffar et al., 1988), *Escherichia coli* (Cortez et al., 1992), *Clostridium perfringens* (Chamorro et al., 2007c) y bacterias anaerobias totales (García-Palomares et al., 2006). En trabajos realizados en otras especies también se observa que aumentos en el nivel de proteína o cambios en el tipo de proteína pueden causar incrementos en el crecimiento de las poblaciones de *Clostridium perfringens* (Drew et al., 2004; Zentek et al., 2004). La presencia de aminoácidos en el lumen intestinal favorece también el crecimiento y la formación de toxinas (Titball et al., 1999). Algunos aminoácidos

esenciales y no esenciales podrían además ser necesarios para la esporulación y la formación de las toxinas (Muhammed et al., 1975; Nakamura et al., 1978).

Figura 2. Efecto del flujo ileal de proteína en el periodo post-destete sobre la mortalidad en el periodo de cebo de acuerdo con varios experimentos.



La adición al pienso de taninos hidrolizables ha reducido también la mortalidad en cebo en un entorno de EEC (Maertens y Strucklec, 2006). Los autores explican este resultado por la formación de complejos indigestibles de los taninos con la proteína de la dieta (lo que reduciría el sustrato para el crecimiento microbiano) y/o por la inhibición de la actividad de microorganismos proteolíticos potencialmente patógenos. Otra fuente relevante de proteína para la flora digestiva es el nitrógeno de origen endógeno (enzimas digestivas, mucoproteínas, células descamadas, urea) que puede suponer entre un 40 y un 60% del flujo ileal total (García-Ruiz et al., 2004; Llorente et al., 2005). Estas pérdidas son altamente variables y son afectadas en primer lugar por el consumo de materia seca y en segundo lugar por la composición de la dieta (e.g. el nivel de fibra o la presencia de FANs). Así, la sustitución de fuentes de proteína con bajo contenido en FANs, como la harina de girasol o proteína de origen animal, con proteína de soja empeoró la integridad de la mucosa (Gutiérrez et al., 2000) y aumentó la mortalidad en cebo (Scheele y Bolder, 1987; Gutiérrez et al., 2003; García-Ruiz et al., 2006).

De acuerdo con la información presentada en este apartado, tendría interés el desarrollo de estrategias alimenticias diseñadas para minimizar el uso de proteína no digerida para el crecimiento microbiano, pero manteniendo un aporte suficiente de aminoácidos para asegurar un rendimiento productivo elevado. En este contexto es relevante la información obtenida en estudios recientes (García-Ruiz et al., 2005; Llorente et al., 2006 y 2007) sobre digestibilidad ileal de proteína y aminoácidos de varios ingredientes comunes en piensos de conejos.

5.- MANEJO DE LA ALIMENTACIÓN

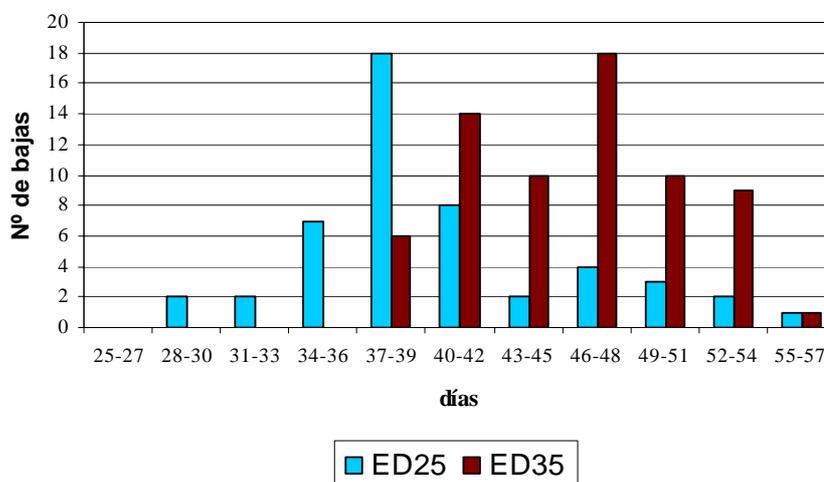
Otro factor que podría estar implicado en la mayor o menor incidencia de la EEC es la edad al destete de los gazapos, dada la presencia en la leche materna de componentes (como inmunoglobulinas, péptidos y otras moléculas) que podrían favorecer el control de la flora patógena intestinal. Así, la leche de coneja contiene una elevada proporción de grasa (alrededor del 13%) y de ácidos grasos de cadena corta y media, como el ácido caprílico (C8:0) y cáprico (C10:0), que suponen más del 50% de los ácidos grasos de la leche (Maertens et al., 2006). Trabajos recientes (Skrivanova et al., 2005) indican que estos ácidos grasos de cadena corta tienen un fuerte efecto bactericida frente a *Clostridium perfringens* en condiciones *in vitro*, por lo que su consumo podría ayudar a controlar la enteropatía. La incorporación al pienso de arranque de este tipo de ácidos grasos (en forma de aceite de coco o palmiste o de preparados especiales) podría también tener por tanto un efecto beneficioso sobre la salud intestinal. Resultados recientes demuestran que los gazapos lactantes excretan menos bacilos coli patógenos (Gallois et al., 2005) que animales destetados de la misma edad. Otro trabajo realizado con animales no medicados (Romero et al., 2007; ver cuadro 2) muestra que la concentración de células vegetativas de *Clostridium perfringens* en el ciego es sensiblemente superior en animales de 42 días de edad destetados a los 28 días que en gazapos de la misma edad que aún permanecen con la madre. Por otra parte, la concentración cecal de células vegetativas de *Clostridium perfringens* 14 días después del destete tiende a continuar siendo superior en gazapos destetados a 28 vs 42 días de edad (ver cuadro 2), de lo que se deduce que la leche podría conferir una protección al menos transitoria frente a la EEC.

En el mismo sentido, varios autores han observado una influencia positiva de un retraso de la edad al destete sobre la mortalidad en cebo (Lebas, 1993; Sánchez, 2006; Feugier et al., 2006; Romero et al., 2007; Romero et al., datos no publicados), si bien este efecto en ocasiones no es detectado (Xicatto et al., 2003), o incluso se observa en ocasiones el efecto contrario (Garrido et al., 2006). En cualquier caso, las ventajas no son tan evidentes cuando la evaluación de los tratamientos se hace en el mismo periodo (ver cuadro 2), ya que existe también mortalidad (entre un 4 y un 6%) en gazapos destetados tardíamente mientras permanecen con la madre (por problemas digestivos y otras causas). Además, debe tenerse en cuenta que un retraso en el destete supone un alargamiento del ciclo reproductivo y, por tanto, una disminución de la productividad numérica (Méndez et al., 1986; Nicodemus et al., 2002) y que la mortalidad por EEC ocurre en animales de mayor edad y peso cuando se retrasa la edad al destete (ver cuadro 2 y figura 3), lo que implica una pérdida de eficacia de conversión del pienso en destetes tardíos. A pesar de ello, se aprecia en la práctica una tendencia en los últimos meses por parte de los cunicultores hacia un retraso en la edad al destete.

Cuadro 2.- Efecto de la edad al destete (28 vs 42 días) sobre la concentración de células vegetativas de *Clostridium perfringens* en el ciego y la mortalidad en el periodo de cebo en animales no medicados (según Romero et al., 2007 y datos no publicados).

	Edad destete		EEM	P
	28 d	42 d		
<i>Ensayo 1 (camadas al azar)</i>				
Concentración cecal de <i>Clostridium perfringens</i> (UFCx10 ³ /g a 42 d de edad) (n=22)	321	98	86	0,09
Concentración cecal <i>Clostridium perfringens</i> (UFCx10 ³ /g 14d después del destete: n=26)	321	132	72	0,09
Mortalidad gazapos, % (n=280)				
- cebo (destete-56 d)	26,1	11,6	3,45	0,005
- TOTAL (28-56 d)	26,1	15,2	3,34	0,02
<i>Ensayo 2 (bloques x camadas)</i>				
Concentración cecal <i>Clostridium perfringens</i> (UFC/g 10 d después del destete: n=20)	13x10 ⁶	1,2x 10 ⁶	6x10 ⁶	0,15
Mortalidad gazapos, % (n=208)				
- cebo (destete-63 d)	15,0	9,3	2,11	0,05
- TOTAL (28-63 d)	15,0	13,6	2,24	NS
Edad media mortalidad, días	42,8	54,7	0,74	0,001

Figura 3.- Distribución de la mortalidad con la edad en función de la edad al destete (ED) (según Garrido et al., 2006).



Por otra parte, una restricción alimenticia de al menos un 20% con respecto al consumo ad libitum redujo la incidencia de enteropatía (Boisot et al., 2003b). Una observación similar ha sido realizada por Pérez de Rozas et al. (2005) a partir de observaciones hechas en condiciones de campo.

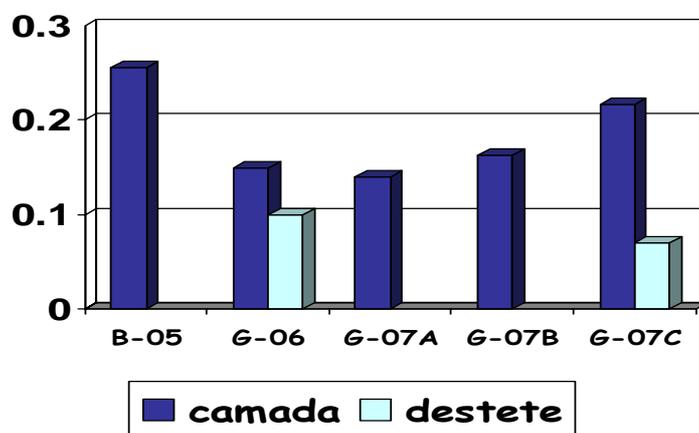
6.- EFECTOS MATERNALES

Diferentes ensayos realizados recientemente en nuestro Departamento indican que la camada tiene un efecto consistente y apreciable sobre la mortalidad en el periodo de cebo, superior al de la edad al destete. Los resultados que se presentan en la figura 4 muestran que la proporción de la variabilidad de la mortalidad en cebo que explica el efecto camada es de un 18,5% como media, con una oscilación entre un 14,0 y un 25,5% en los diferentes ensayos. Este efecto resultaba de que, por término medio, un 50% de las bajas en cebo procedían de un 14% de las camadas, mientras que en un 50% de las camadas no se producía ninguna baja.

En otro ensayo de control microbiológico del contenido digestivo (Romero et al., 2007) se observó que sobre 269 animales estudiados, los 14 gazapos que presentaban síntomas de EEC procedían de sólo seis de las 34 camadas utilizadas (un 17,6%), de forma que en un 82,4% de las camadas ninguno de los gazapos presentó síntomas de EEC. Por otra parte, análisis microbiológicos realizados por RFLP muestran un elevado grado de similitud de la microbiota intestinal entre hermanos de una misma camada (García-Alonso et al., 2005).

Todos estos resultados sugieren una posible contaminación con microorganismos patógenos antes del destete (vía materna o a través del nido) y abren nuevas posibilidades de actuación para el control de los problemas digestivos cuya eficacia debe confirmarse en posteriores ensayos.

Figura 4.- Proporción (en tanto por uno) de la suma total de cuadrados (R^2) explicada por los efectos camada y edad al destete en varios ensayos (n = 512, 733, 102, 90 y 416)



7.- EFECTOS AMBIENTALES, HIGIENE AMBIENTAL

Otro aspecto importante, y en ocasiones minusvalorado en las explotaciones cunícolas, es el mantenimiento de la higiene ambiental. En particular *Clostridium perfringens* puede permanecer en el ambiente en forma de esporas resistentes. En el caso de que no se realice una limpieza y desinfección adecuada entre cebos consecutivos podría suceder que las esporas continuaran presentes en los distintos equipamientos y materiales en el interior de una granja, pudiendo transmitir la enfermedad a animales de ciclos posteriores. En algunos muestreos realizados en granjas hemos observado la presencia, tanto en el polvo del ventilador como en el nido, de entre 100×10^3 y 1200×10^3 esporas de *Clostridium perfringens* por gramo. Muestreos simultáneos realizados en estas mismas granjas indican ausencia de células vegetativas y esporas en muestras de pienso tomadas en saco y en cambio presencia (de hasta 600 esporas/g) en muestras de pienso tomadas en el comedero.

En el cuadro 3 se presentan datos (no publicados) de los que se deduce la existencia de una correlación entre la higiene ambiental, la contaminación con *Clostridium perfringens* del ambiente (polvo del ventilador), la concentración de *Clostridium perfringens* en el contenido cecal de los gazapos 2 semanas después del destete y la mortalidad en cebo (animales no medicados) determinada de forma simultánea en la misma nave donde se tomaban los otros registros.

Cuadro 3.- Efecto de la concentración de células vegetativas de *Clostridium perfringens* en muestras tomadas en el ventilador de la nave sobre la concentración cecal de células vegetativas *Clostridium perfringens* y la mortalidad en el periodo de cebo (28-63 días de edad) en piensos no medicados.

Ensayo	Ciclo	Nave	Cl. perfringens (UFCx10 ³ /g)		Mortalidad, % (n=200)
			Ventilador	Cont. cecal*	
1	1	1	0	17	3,6
2	4	1	680	57	17,2
2	4	2	1500	130	33,3

*muestras tomadas 14 días después del destete (n=20)

En el mismo sentido, cambios en el manejo de los animales, tales como la generalización del manejo en bandas y un mayor control de la higiene ambiental han hecho posible reducir la mortalidad y la incidencia de EEC en granjas comerciales (Licois et al., 2006). Igualmente, otro trabajo (Garrido et al., 2006) muestra cómo una correcta limpieza y desinfección entre 4 tandas de cebo consecutivas permite reducir notablemente la mortalidad (desde un 15 hasta un 8%) en animales en cebo del mismo origen y que no fueron medicados.

8.- CONCLUSIONES

Los resultados presentados en este trabajo sugieren la existencia de una relación entre la incidencia de EEC y la concentración de células vegetativas de *Clostridium perfringens* en el contenido digestivo. Igualmente se deduce que una adecuada formulación del pienso (aporte de fibra soluble, concentración óptima de fibra insoluble, reducción del aporte de aminoácidos para el crecimiento microbiano) y cambios en el manejo (mejora de la higiene ambiental, retraso de la edad al destete, restricción del consumo) resultan efectivos para el control de la proliferación de *Clostridium perfringens* y para reducir la mortalidad por EEC.

9.- REFERENCIAS

- AGNOLETTI F., BACCHIN C., BANO L., PASSERA A., FAVRETTI M., MAZZOLINI E. (2007) *World Rabbit Sci.* 15, 19-22.
- ALVAREZ J.L., MARGUENDA I., GARCIA-REBOLLAR P., CARABAÑO R., DE BLAS J.C., CORUJO A., GARCIA-RUIZ A.I. (2007) *World Rabbit Sci.* 15, 9-17.
- BADIOLA I., FAUS C., PEREZ DE ROZAS A.M. GOROSTIAGA O., ROSELL J.M. (2000) *World Rabbit Sci.* 8, 195-198
- BADIOLA I., GONZALEZ J., ALOY N., PEREZ DE ROZAS A.M. 2007. En: *II Congreso Ibérico Cunicultura*. Vila Real, Portugal, pp.185-193
- BOISOT P., DUPERRAY Y., GUYONVARCH A., LE BIHAN A., RICHARD A., LICOIS D., COUDERT P. (2003a) En: *10émes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- BOISOT P., LICOIS D., GIDENNE T. (2003b) En: *10emes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- BOSTVIRONNOIS, C., MOREL, A. (2003) En: *10émes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- CAMPIN J., EIRAS P., REBOLLAR P.G., CARABAÑO R. (2003) *ITEA* 24, 660-662.
- CATALA J., BONNAFOUS R. (1979) *Ann. Zootech.* 28, 128
- CHAMORRO S., CARABAÑO R., BADIOLA I., GARCÍA J., DE BLAS J.C., (2007a). En: *12emes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- CHAMORRO S., CARABAÑO R., GRANT G., GARCÍA J., DE BLAS J.C., (2007b) En: *II Congreso Ibérico Cunicultura*. Vila Real, Portugal. pp 91-94.
- CHAMORRO S., GÓMEZ-CONDE M.S., PÉREZ DE ROZAS A.M., BADIOLA I., CARABAÑO R., DE BLAS J.C. (2007c) *Animal* 1, 651-659.
- CHIOU P.W.S., YU B., LIN C. (1994) *Comp Biochem Physiol A.* 108, 629-638.
- CORTEZ S., BRANDEBRUGER H., GREUEL E., SUNDRUM, A., (1992) *Tierär Umschau* 47, 544-549.
- COUDERT P., JOBERT J.L., LAROUB G., GUITTET M. (2003) En: *10emes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.

- DE BLAS J.C., GUTIÉRREZ I., CARABAÑO R. (1999^a) Destete precoz en gazapos. Situación actual y perspectivas. En: *XV Curso de Especialización FEDNA*. Madrid. pp. 67-81.
- DE BLAS J.C., GARCÍA J., CARABAÑO R. (1999b). *Ann. Zootech.* 48, 3-13.
- DEWRÉE R., LICOIS D., COUDERT P., LASSENCE C., VINDEVOGEL H., MARLIER D. (2003) En: *10emes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- DREW M.D., SYED N.A., GOLDADE B.G., LAARVELD B. VAN KESSEL A.G. (2004) *Poultry Sci.* 83, 414-420.
- DUPERRAY J., BOISOT P., GUYONVARCH A., RICHARD A. (2003) En : *10èmes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- EFSA. 2005. *EFSA J* 199, 1-65.
- ELFADIL A.A., VAILLANCOURT J., MEEK A.H. (1996) *Avian Dis.* 40, 699-706.
- FABRE C., JUBERO M.A., BLAS E., FERNÁNDEZ-CARMONA J., PASCUAL J.J. (2006) En: *XXXI Symposium de Cunicultura*, Murcia pp. 67-72.
- FEUGIER A., SMIT M.N., FORTUN-LAMOTHE L., GIDENNE T. (2006) *Anim. Sci.* 82, 493-500.
- GALLOIS M., BOULLIER S., MILON A., GIDENNE T. (2005) En: *11èmes Journées de la Recherche Cunicole*, INRA, Paris.
- GARCÍA-ALONSO J., DE BLAS J.C., CARABAÑO R., GARCÍA P. (1995) *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 267-275.
- GARCÍA-ALONSO J., CARABAÑO R., PEREZ ALBA L., DE BLAS J.C. (2000) *J. Anim. Sci.* 78, 638-646.
- GARCÍA-ALONSO J., GOMEZ-CONDE M.S., CHAMORRO S., NICODEMUS N., DE BLAS J.C., CARABAÑO R., PÉREZ DE ROZAS A., BADIOLA I. (2005) En: *XXX Symposium Cunicultura Asescu*, Valladolid, pp 157-165.
- GARCIA-PALOMARES J., CARABAÑO R., GARCIA-REBOLLAR P., DE BLAS J.C., CORUJO A., GARCIA-RUIZ A.I. (2006) *World Rabbit Sci.* 14, 231-236.
- GARCIA-RUIZ A.I., GARCÍA J., DE BLAS J.C., PIQUER J., CARABAÑO R. 1997. *ITEA* 18, 190-192.
- GARCÍA-RUIZ A.I., DE BLAS J.C., CARABAÑO R., (2004) *Anim. Sci.* 79, 231-240.
- GARCÍA-RUIZ A.I., DE BLAS J.C., CARABAÑO R., (2005) *Anim. Sci.* 80, 169-178.
- GARCIA-RUIZ A.I., GARCIA-PALOMARES J., GARCIA-REBOLLAR P., CHAMORRO S., CARABAÑO R., DE BLAS J.C. (2006) *Span. J. Agric. Res.* 4, 297-303.
- GARRIDO S., NICODEMUS N., CHAMORRO S., DE BLAS J.C. (2006) En: *XXXI Symposium Cunicultura Asescu*, Lorca, pp 95-101.
- GIDENNE T., MIRABITO L., JEHL N., PEREZ J.M., ARVEUX P., BOURDILLON A., BRIENS C., DUPERRAY J., CORRENT E. (2004 a) *Anim. Sci.* 78, 389-398.
- GIDENNE T., JEHL N., LAPANOUSE A., SEGURA M. (2004b) *Br. J. Nutr.* 92, 95-104.
- GIDENNE T., LICOIS D. (2005) *Anim. Sci.* 80, 281-288.

- GÓMEZ-CONDE M.S., GARCÍA J., CHAMORRO S., EIRAS P., REBOLLAR P.G., PÉREZ DE ROZAS, A., BADIOLA, I., DE BLAS J.C., CARABAÑO R. (2007) *J. Anim. Sci.* (en prensa, doi: 10.2527/jas.2006-777)
- GREENHAM L.W., HARBER C., LEWIS E., SCULLION F.T. (1987) *Vet. Rec.* 120, 557.
- GUTIÉRREZ I., CACHALDORA P., CARABAÑO R., DE BLAS J.C. (2000) *World Rabbit Sci.* 8, 263-268.
- GUTIÉRREZ I., ESPINOSA A., GARCÍA J., CARABAÑO R., DE BLAS J.C. (2002) *J Anim. Sci.* 80, 1029-1037.
- GUTIÉRREZ I., ESPINOSA A., GARCÍA J., CARABAÑO R., DE BLAS J.C. (2003) *Anim. Res.* 52, 461-472.
- HAFFAR A., LAVAL A., GUILLOU J.P., (1988) *Le Point Vét.* 20, 99-102.
- HAMPSON D.J., PLUSKE J.R., PETHICK D.W. (2001) En: *Digestive Physiology of Pigs*. Ed. J.E. Lindberg and B. Ogle. CABI Publishing. pp. 247-260.
- HATHEWAY C.L. (1990). *Clin. Microbiol. Rev.* 3, 66-98.
- LAVRENCIK A. (2007) *Animal* 1, 241-248.
- LE NORMAND, B., LE GUENEC, J., MOALIC, P.Y. (2003). En: *10emes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- LEBAS F., LAPLACE J.P. (1972) *Ann. Zootech.* 21, 337-347.
- LEBAS F., (1993) *Cuniculture* 20, 73-75.
- LE FLOC'H N., SEVE B. (2000) *Prod. Anim.* 13, 303-314.
- LICOIS D., COUDERT P., CERE N., VAUTHEROT J.F. (2000) *World Rabbit Sci.* 8, 187-194.
- LICOIS D., DEWRÉE R., COUDERT P., VINDEVOGEL H., MARLIER D. (2003) En: *10emes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- LICOIS D., COUDERT P., MARLIER D. (2006) En: *Recent advances in rabbit sciences* (Maertens L., Coudert P. ed). Ed. Ilvo, Merelbeke, Belgium. pp. 163-170.
- LLORENTE A., GARCÍA A.I., NICODEMUS N., VILLAMIDE M.J., CARABAÑO R. (2005). *ITEA* 26 (2), 497-499.
- LLORENTE A., GARCÍA A.I., NICODEMUS N., VILLAMIDE M.J., CARABAÑO R. (2006) En *XXXI Symposium Cunicultura Asescu*, Lorca, pp 117-124
- LLORENTE A., VILLAMIDE M.J, GARCÍA A.I., CARABAÑO R. (2007) En: *II Congreso Ibérico Cunicultura*. Vila Real, Portugal, pp 87-90
- MAERTENS L., STRUKLEC M. (2006) *World Rabbit Sci.* 14, 189-192.
- MAERTENS L., LEBAS F., SZENDRO Z. (2006) *World Rabbit Sci.* 14, 205-230.
- MARGÜENDA I., CARABAÑO R., GARCIA-REBOLLAR P., DE BLAS J.C., GARCIA-RUIZ A. (2006). En: *3rd Rabbit Congress of the Americas*, Maringá, Brasil.
- MARLIER D., DEWRÉE R., LICOIS D., COUDERT P., LASSENCE C., POULIPOULIS A., VINDEVOGEL H. (2003) En *10émes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- MARLIER D., DEWRÉE R., LASSENCE C., LICOIS D., MAINIL J., COUDERT P., MEULEMANS L., DUCATELLE R., VINDEVOGEL H. (2006) *Vet. J.* 172, 493-500.

- MAROUNEK M., VOVK S.J., SKRIVANOVA V. (1995) *Br. J. Nutr.* 73, 463-469.
- MÉNDEZ J., DE BLAS J.C., FRAGA M.J. (1986) *J. Anim. Sci.* 62, 1624-1634.
- MUHAMMED S.I., MORRISON S.M., BOYD W.M. (1975) *J. Appl. Bacteriol.* 3, 245-253.
- NAKAMURA M., COOK J., CROSS W. (1968) *Appl. Microbiol.* 16, 1420-1421.
- NICODEMUS N., GUTIÉRREZ I., GARCÍA J., CARABAÑO R., DE BLAS C. (2002) *Anim. Res.* 51, 517-523.
- NICODEMUS N., PÉREZ-ALBA L., CARABAÑO R., DE BLAS C., BADIOLA I., PÉREZ DE ROZAS A., GARCÍA J. (2004) En: *8th World Rabbit Congress*. Puebla (Méjico)
- PERÉZ DE ROZAS A.M., CARABAÑO R., GARCÍA J., ROSELL J., DÍAZ J.V., BARBÉ J., PASCUAL J.J., BADIOLA I. (2005) En: *XXX Symposium de Cunicultura*. Valladolid pp. 167-174.
- PETIT L., GIBERT M., POPOFF M.R. (1999) *Trends in Microbiol.* 7, 104-110.
- REEDS P.J., BURRIN D.G., STOLL B., JAHOR F. (2000) *J. Nutr.* 130, 978S-982S.
- ROMERO C., NICODEMUS N., CORUJO A., ASTILLERO J.R., DE BLAS J.C. (2007) En: *12emes Journées de la Recherche Cunicole*. INRA, Mans.
- SANCHEZ, M. (2006) Efecto de la edad al destete sobre la composición corporal y los rendimientos de conejas gazapos. Proyecto fin de carrera, EUITA, UPM.
- SCHEELE C.W., BOLDER N.M. (1987) En: *Rabbit production systems including welfare*. Ed. Commission of the European Communities, Brussels, pp. 115-125.
- SKRIVANOVA E., MAROUNEK M., DLOUHA G., KANJA J. (2005) *Letters Appl. Microbiol.* 41, 77-81.
- SONGER J.G. (1996) *Clin. Microbiol. Rev.* 9, 216-234.
- SZALO I.M., LASSENCE C., LICOIS D., COUDERT P., POULIPOULLIS A., VINDEVOGEL H., MARLIER D. (2007) *Vet. J.* 173, 652-657.
- TITBALL R.W., NAYLOR C.E., BASAK A.K. (1999) *Anaerobe* 5, 51-64.
- VAN IMMERSEEL, F., DE BUCK, J., PASMANS, F., HUYGHEBAERT, G., HAESBROUCK, F., DUCTELLE, R. (2004) *Avian Pathol.* 33, 537-549.
- WILLIAMS R.B. (2005) *Avian Pathol.* 34, 159-180.
- XICCATO G., TROCINO A., SARTORI A., QUEAQUE P.I. (2003) *Anim. Sci.* 77, 101-111.
- ZENTEK J., FRICKE S., HEWICKER-TRAUTWEIN M., EHINGER B., AMSTBERG G., BAUMS C. (2004) *J. Nutr.* 134, 2158-2161.